



TITLE:

# Analysis of interaction between cellulosic biomass and saccharification enzymes( Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

Imai, Makiko

---

CITATION:

Imai, Makiko. Analysis of interaction between cellulosic biomass and saccharification enzymes. 京都大学, 2020, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13347>

RIGHT:

許諾条件により本文は2021-01-01に公開

( 続紙 1 )

京都大学	博士（農学）	氏名	今井 牧子
論文題目	Analysis of interaction between cellulosic biomass and saccharification enzymes (セルロース系バイオマスと糖化酵素の相互作用解析)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>石油代替燃料としてバイオエタノールが注目されているが、リグノセルロースを原料とした生産には未だ問題点が多い。バイオエタノールを発酵生産するためには、まずセルロースをグルコースに分解しなければならない。セルロースを低濃度の酵素で糖化すると、糖化速度が頭打ちし完全には糖化されない。そのため、完全に糖化するためには多量の酵素を必要とし、コストアップの原因となっている。酵素糖化の「頭打ち」現象に関連し、これまで古紙など乾燥履歴をもつセルロースが難糖化性であること、酵素の基質への非生産的な吸着なども報告されている。しかし、「頭打ち」を生じる基質と酵素の相互関係については未だ不明な点が多い。そこで、本研究では、セルロースマイクロフィブリル (CMF) からパルプ繊維、植物組織に及ぶマイクロからマクロスケールのバイオマス基質を対象に、酵素の吸着・糖化挙動を顕微鏡による可視化、スペクトロスコピーにより精査した。その内容は以下のよう要約される。</p> <p>第一章では、バイオエタノール生産の現状、問題点、セルロースの構造、セルラーゼのセルロース分解機構などを解説した。そして、セルロース系バイオマスにおける糖化の「頭打ち」を解決するためには、基質と酵素の相互関係を明らかにすることが不可欠であることを詳述した。</p> <p>第二章では、サトウキビバガス CMF を低濃度酵素で糖化した残渣を解析した。糖化初期に CMF が短くなり、その後徐々に幅が減少した。また、残渣を重水置換したのち赤外線吸収スペクトルを測定することで、CMF 表面の疎水面の増加によって自己凝集するという、酵素糖化に伴う CMF の挙動を明らかにした。CMF 表面の疎水面の増加という現象はセルロース I 特有であると思われ、低濃度酵素糖化における糖化の頭打ち現象の原因のひとつであると結論付けた。</p> <p>第三章では、乾燥セルロースに対する酵素の挙動（吸脱着、浸透）を、蛍光ラベル化酵素を用いて可視化した。乾燥セルロースは糖化されにくいことが知られており、セルロースの角質化がその原因と言われている。乾燥パルプでは、細胞壁の表面、亀裂、糖化によって切断された仮道管の切断面、細胞壁構造の乱れた座屈部に酵素がとどまり、細胞壁の内部にはほとんど浸透しなかった。このように、パルプ繊維の乾燥による「角質化」によって、酵素が細胞壁内部まで浸透できなくなるほど、細胞壁内の細孔が減少することを、蛍光ラベル化酵素を用いて可視化して証明</p>			

した。

第四章では、サトウキビ組織上のラベル化酵素のタイムラプス観察により、糖化酵素カクテル内の個々の酵素のバイオマスへの吸着挙動の時間的・空間的な違いを明らかにし、「頭打ち」を生じる基質と酵素の相互関係について論じた。セロビオハイドロラーゼ (CBH) は基本組織柔細胞を分解したのち、リグニンの多い維管束鞘繊維の細胞に移動した。CBH I は他の酵素と比較して非常に吸着量が多く、同じプロセッシブ型の CBH II は混合比から予想されるよりも遥かに吸着量が少なかった。このことから、CBH I は CBH II よりも活性が高く、分子の端から連続的に分解していくプロセッシブ性が強い酵素であることが示された。糖質結合モジュール (CBM) をもたないキシラナーゼ Xyn III がほとんど切片に吸着されなかったのと比較して、CBM をもつ Xyn10 は切片への吸着量が多かった。また、Xyn10 を含むカクテル酵素の方が Xyn III を含むカクテル酵素よりも、キシランだけでなくセルロース糖化率も高く、高活性の酵素であることが確認された。切片に蛍光色素ラベル化酵素を作用させタイムラプス観察することによって、植物組織上での酵素の経時的挙動が明らかになった。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせ

て、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

セルロース系バイオマスの酵素糖化では、反応時間とともに糖化速度が低下する「頭打ち」現象が知られている。「頭打ち」現象としては、低濃度酵素条件での糖化、古紙など乾燥履歴をもつセルロースの糖化、酵素の基質への非生産的な吸着などが報告されている。本研究は、セルロースマイクロフィブリルからパルプ繊維、植物組織に及ぶマイクロからマクロスケールのバイオマス基質を対象として、酵素糖化の「頭打ち」挙動を可視化により精査したものであり、評価できる点は、以下のとおりである。

1. 蛍光色素を結合させた酵素でセルロース基質を糖化し、糖化過程での酵素の挙動を可視化することを可能にした。
2. サトウキビバガスの糖化残渣を重水置換法により測定し、マイクロフィブリル表面の疎水面の増加によって自己凝集するという、酵素糖化に伴うセルロースⅠ型特有の挙動を明らかにした。
3. パルプの乾燥による「角質化」がパルプ繊維内部の細孔を減少させる結果、酵素の吸着が繊維の表面、亀裂部、座屈部または端部に限定され、酵素の細胞壁内部への浸透を阻害することを証明した。
4. サトウキビ組織上の蛍光色素ラベル化酵素のタイムラプス観察により、糖化酵素カクテル内の個々の酵素のバイオマスへの吸着挙動の時間的・空間的な違いを明らかにし、「頭打ち」を生じる基質と酵素の相互関係について明らかにした。

以上のように、本論文はセルロース系バイオマスの酵素糖化の速度が低下する要因を、反応下にある酵素・基質相互作用の可視化を通して明らかにしたもので、木材組織化学、セルロース科学、バイオマス変換学や酵素科学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和2年2月12日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注）論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）